



**University of  
Zurich**<sup>UZH</sup>

**Zurich Open Repository and  
Archive**

University of Zurich  
University Library  
Strickhofstrasse 39  
CH-8057 Zurich  
[www.zora.uzh.ch](http://www.zora.uzh.ch)

---

Year: 2015

---

## **Vitamin B12-basierte Chemosensoren: Effizienter Nachweis von Zyaniden**

Zelder, Felix

**Abstract:** Vitamin B12-basierte Chemosensoren stellen bezüglich Selektivität, Sensitivität, Biokompatibilität und Geschwindigkeit wahrscheinlich die derzeit attraktivsten Systeme zum Nachweis von Zyaniden mit blossen Auge dar. Diese Systeme erlauben aufgrund ihrer überragenden Eigenschaften den raschen, optischen Nachweis von freiem Zyanid in Nahrungsmitteln und im Blut, zwei sehr wichtige Anwendungen in der Lebensmittelkontrolle und Notfallmedizin.

Posted at the Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich  
ZORA URL: <https://doi.org/10.5167/uzh-118849>  
Scientific Publication in Electronic Form  
Published Version

Originally published at:

Zelder, Felix (2015). Vitamin B12-basierte Chemosensoren: Effizienter Nachweis von Zyaniden. <http://www.git-labor.de/>: gitverlag.

29.01.2015

## **Vitamin B<sub>12</sub>-basierte Chemosensoren: Effizienter Nachweis von Zyaniden**

**Vitamin B<sub>12</sub>-basierte Chemosensoren stellen bezüglich Selektivität, Sensitivität, Biokompatibilität und Geschwindigkeit wahrscheinlich die derzeit attraktivsten Systeme zum Nachweis von Zyaniden mit bloßem Auge dar. Diese Systeme erlauben aufgrund ihrer überragenden Eigenschaften den raschen, optischen Nachweis von freiem Zyanid in Nahrungsmitteln und im Blut, zwei sehr wichtige Anwendungen in der Lebensmittelkontrolle und Notfallmedizin.**

Der Gebrauch von Zyankali mit mörderischen Absichten ist den meisten aus Fernsehserien oder Kriminalgeschichten bestens bekannt. In Donna Leons Buch „Venezianisches Finale“ konnte beispielsweise Commissario Brunetti unverzüglich die Todesursache eines bekannten Dirigenten aufgrund des unverkennbaren Geruches von Bittermandel am Tatort ermitteln. In der Tat wirkt Zyanid (CN<sup>-</sup>), die konjugierte Base der Blausäure (HCN), bei uns Menschen bereits in kleinsten Mengen von nur 0.5 bis 5 mg pro kg Körpergewicht tödlich und ungefähr die Hälfte aller Menschen können, genetisch bedingt, das farblose, gasförmige Gift an seinem charakteristischen Geruch erkennen. Die Giftigkeit des Zyanids beruht dabei auf seinen aussergewöhnlich koordinativen Eigenschaften. Als starker  $\sigma$ -Donator, aber eher schwacher  $\pi$ -Akzeptor bindet es fest an biologisch wichtige Übergangsmetallionen in hohen Oxidationsstufen wie beispielsweise das Fe(III) Zentrum des Enzyms Cytochrom C Oxidase. Es verhält sich somit chemisch gänzlich anders als das isoelektronische Kohlenmonoxid, das als stärkerer Rückbinder eher das Fe(II) Zentrum des Hämoglobins bevorzugt und dadurch die Sauerstoffaufnahme unterbindet. Obwohl dieser Vorgang bei einer Zyanidvergiftung noch problemlos möglich ist, kann der Sauerstoff im weiteren biologischen Verlauf nicht verwertet werden, was als Inhibierung der inneren Atmung beschrieben wird [1].

### **Zyanid in Nahrungsmitteln und als Verbrennungsprodukt**

Trotz der potentiellen Gefahren sind Zyanide aufgrund ihrer hervorragenden Eigenschaften als Grundchemikalien für industrielle Anwendungen wie

beispielsweise die Extraktion von Gold, die Galvanik oder die Synthese von Polymeren heutzutage noch unverzichtbar.



Aus wahrscheinlich ähnlichen Gründen kommen Zyanide auch relativ häufig in Naturstoffen vor. Sie werden von gewissen Bakterien produziert und metabolisiert, dienen als Ligand im aktiven Zentrum des Enzyms [FeNi]-Hydrogenase oder werden in Pflanzen wie Mandeln, Kirschen, Bambus oder Maniok als cyanogene Glykoside gespeichert. Einige dieser Pflanzen stellen bedeutende Nahrungsmittel für uns Menschen dar. Maniok (*Manihot esculenta*) stellt beispielsweise eine der wichtigsten Kohlenhydratquellen für über 500 Millionen Personen in Afrika und Südamerika dar und findet momentan auch vermehrt Einzug in unsere Supermärkte und Küchen. Vor dem Verzehr ist die Entfernung des bei der Zubereitung enzymatisch freigesetzten Zyanids natürlich zwingend. Neben gewissen Nahrungsmitteln stellen auch einige Genussmittel potentielle Gefahrenquellen dar. In diesem Zusammenhang sind wahrscheinlich Raucher am stärksten der Blausäure ausgesetzt. Das toxische Gas entsteht als Verbrennungsprodukt der Zigarette und wird beim Inhalieren in den Körper aufgenommen. Glücklicherweise verfügen wir Menschen, wie auch die meisten anderen Lebewesen, über verschiedene Abbaumechanismen, die das giftige Zyanid rasch und effizient metabolisieren. Am bedeutendsten trägt hierzu das Enzym Rhodanase bei, dass das Zyanid zum weit weniger giftigen Thiocyanat umsetzt. Problematisch wird eine Rauchgasintoxikation jedoch bei Bränden. Auch hier entstehen als Folge der Verbrennung organischer Materialien neben andere Verbindungen vor allem Kohlenmonoxid und Blausäure. Statistisch gesehen fallen ungefähr 80 % aller Brandopfer einer Rauchgasvergiftung und nicht den Verbrennungen zum Opfer, was die Bedeutung der richtigen Indikation in der Notfallmedizin unterstreicht. In diesem Zusammenhang zeigte die klinische Forschung in den letzten Jahren, dass die Blausäureintoxikation gegenüber der Kohlenmonoxidvergiftung lange Zeit unterschätzt wurde. Wo dem Notfallarzt zur

Bestimmung letzterer bereits die Pulsoximetrie zur Verfügung steht, fehlt bisweilen ein Schnelltest zur Vor-Ort-Bestimmung von Zyaniden. Die Behandlung mit Gegengiften erfolgt daher noch ausschliesslich aufgrund der Beurteilung äusserer Symptome.

Diese Beispiele zeigen eindrücklich auf, dass der qualitative und quantitative Nachweis von Zyaniden in der Industrie und Umwelt, aber auch in der Lebensmitteltechnik und Notfallmedizin von enormer Bedeutung ist.

### **Nachweisverfahren**

Obwohl natürlich schon unterschiedliche Verfahren für die Bestimmung von Zyaniden zur Verfügung stehen, ist es erstaunlich, dass für bestimmte Applikationen nützliche Methoden noch immer fehlen. Dies gilt insbesondere in Situationen, wo ein schneller Vor-Ort-Nachweis wünschenswert wäre. Viele der heute gängigen Verfahren sind schlicht zu langsam, umständlich, ungenau oder funktionieren nicht in Wasser oder biologischen Extrakten. Andere Verfahren hängen hingegen von teuren und unhandlichen Laborgeräten ab, die nur das Fachpersonal zu bedienen versteht. Sie können deshalb nicht in allen Situationen und Regionen zum Einsatz kommen. Chemosensoren stellen eine attraktive Alternative dar.

Diese Verbindungen ändern in Anwesenheit des Zielmoleküls ihre optischen Eigenschaften, wobei im optimalen Fall eine Farbänderung schon mit blossem Auge erkennbar ist. Bis zu Beginn der Arbeiten zur Entwicklung von Vitamin B<sub>12</sub> ("B<sub>12</sub>")-basierten Chemosensoren im Jahr 2008 fehlte jedoch ein entsprechendes System für den raschen Nachweis von Zyaniden [2-3].

### **Vitamin B<sub>12</sub>-basierte Chemosensoren**

B<sub>12</sub> ist ein für uns Menschen essentielles Vitamin, das aus einem tetradentaten Corrin-Makrozyklus, einem Kobaltzentrum und zwei axial koordinierenden Liganden besteht.[1] Bei letzteren handelt es sich um eine intramolekular koordinierende Dimethylbenzimidazolbase (Dmbz) sowie um einen Zyanid-Liganden. Obwohl die optischen Eigenschaften des an sich roten Naturstoffes von den  $\pi$ - $\pi^*$  Übergängen des Corrin-Liganden herrühren, werden diese durch die Anzahl der axial koordinierenden Liganden stark beeinflusst. Die Substitution der Dmbz-Base des B<sub>12</sub>s durch Zyanid führt dabei zu einem violett farbigen Dizyano-Corrinoid [3]. Obwohl mit diesem System nur millimolare Konzentrationen des Giftes für das Auge sichtbar gemacht werden können, ist es bemerkenswert, dass gängige Störionen wie beispielsweise Fluoride oder Chloride die Messungen nicht beeinflussen. Auf dieser Arbeit aufbauend wurden anschliessend die Eigenschaften des Systems durch die Synthese von Corrinoiden mit fehlender intramolekular

koordinierender Base verbessert (Abb. 1) [4]. Es wurde vermutet, dass die Bindung des Zyanids an das Kobalt-Ion dadurch erheblich erleichtert werden würde, da nun kobaltkoordiniertes Wasser anstelle der intramolekular gebundenen Dmbz Base substituiert werden muss. In der Tat lagen die Autoren mit dieser Annahme richtig [4].

Diese Verbindungen gestatteten nun in sekundenschnelle Zyanide mit einer Konzentration nahe dem von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) festgelegten Trinkwassergrenzwert von  $1.6 \mu\text{M}$  nachzuweisen. Die Geschwindigkeit der  $\text{B}_{12}$ -basierten Indikatoren ist dabei für analytische Zwecke extrem nützlich. Die Substitution von Liganden sind bei Corrinoiden um Faktoren zwischen  $10^3$  und  $10^5$  schneller als vergleichbare Reaktionen mit Cobalt(III)-Porphyrinen und Cobalt(III)-tetrammin Komplexen [5]. Ihre Geschwindigkeitskonstanten zweiter Ordnung ( $k_{II} \sim 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) ähneln dabei eher kinetisch labilen  $\text{Co(II)}$ - Verbindungen als typischen  $\text{Co(III)}$ -Werner Komplexen. Dieses Verhalten erklärt sich mit den stark donierenden Eigenschaften des Corrin-Liganden (cis-Effekt). Aufbauend auf diesen grundlegenden Arbeiten konnten anschliessend die ersten Schnelltests zum Nachweis von freiem Zyanid in Nahrungsmitteln und im Blut entwickelt werden. Für erstere Anwendung fokussierten sich die Autoren auf die Detektion von endogenem Zyanid in Maniok, die durch die rasche Violettfärbung des orangefarbenen Indikators angezeigt wird (Abb. 2) [6-7].

Die hier gezeigte Forschung wurde kürzlich in Zusammenarbeit mit mosambikanischen und schwedischen Lebensmittelingenieuren erweitert [8]. Die Detektion von freiem Zyanid in Blut erwies sich jedoch als deutlich schwieriger. Normalerweise wird dafür der Giftstoff zunächst durch Säurebehandlung als Blausäure aus dem Blut „ausgetrieben“ und anschliessend separat analysiert. Dieser Prozess ist für eine Notfallsituation zu umständlich und mit einer Gesamtzeit von knapp 40 Minuten ungeeignet. Es wurde ein komplett anderer Ansatz gewählt und man entwickelte eine neue Festphasenextraktionsmethode zum optischen Nachweis von Zyaniden im Blut (Abb. 3). Hierzu wird zunächst der Chemosensor zum Blut gegeben. Nach erfolgter Anbindung des Zyanids an den Chemosensor wird in einem zweiten Schritt die Probe mittels Spritze durch eine Kartusche gegeben. Eine eventuelle Violettfärbung des gebundenen, ursprünglich orangefarbenen Indikators zeigt dabei das Giftmolekül an. Der Trick dieses Verfahrens ist, dass ausschliesslich der Chemosensor, aber nicht das farbige Blut, an der Festphase zurückgehalten wird. Aus einer quantitativen Bestimmung kann auch die Konzentration des Zyanids ermittelt werden (der interessierte Leser wird auf das Youtube-Video <https://www.youtube.com/watch?v=geSIQDjvFys> verwiesen, indem die Methode näher vorgestellt wird). Ein solches System könnte in der

zukünftigen Diagnostik von Rauchgasvergiftungen von enormem Nutzen sein, was jedoch noch durch entsprechende Studien belegt werden muss.

## **Zusammenfassung**

B<sub>12</sub>-basierte Chemosensoren stellen bezüglich Selektivität, Sensitivität, Biokompatibilität und Geschwindigkeit wahrscheinlich die derzeit attraktivsten Systeme zum Nachweis von Zyaniden mit blossen Auge dar. Es gilt nun abzuwarten, ob der nächste Schritt von der universitären Forschung zu routinemässigen Anwendungen gelingt.

## **Literatur**

- [1] Zelder F. und Alberto R.: Vol. 25 (Eds.: K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guillard), Elsevier Science, San Diego, 83-130 (2012)
- [2] Zelder F. H. und Männel-Croise, C.: *Chimia* 63, 58-62 (2009)
- [3] F. H. Zelder: *Inorg. Chem.* 47, 1264-1266 (2008)
- [4] Männel-Croise C. und Zelder F. *Inorg. Chem.* 48, 1272-1274 (2009)
- [5] Aebli B. *et al.*: *Inorg. Chem.* 53, 2516-2520 (2014)
- [6] Männel-Croise C. *et al.*: *Anal. Chem.* 81, 9493-9498 (2009)
- [7] Männel-Croise, C. und Zelder F.: *ACS Appl. Mat. Interf.* 4, 725-729 (2012)
- [8] Tivana L. *et al.*: *Food. Chem.* 158, 20-27 (2014)
- [9] Männel-Croise C. und Zelder F.: *Anal. Methods* 4, 2632-2634 (2012)

**Weitere Beiträge zum Thema:** [www.git-labor.de/category/tags/sensorik](http://www.git-labor.de/category/tags/sensorik)

**Quantitative Konzentrationsbestimmung von Zyanid (Video):**

<https://www.youtube.com/>

## **Autor(en)**

PD Dr. Felix Zelder, Institut für Chemie, Universität Zürich

## **Kontaktieren**

**University of Zürich**

Winterthurerstr. 190 -272

8057 Zürich

Telefon: 0041/44/6341111

Telefax: 0041/44/6344901